

# 饲料中胆固醇含量对雄性红螯光壳螯虾 生长及生殖的影响

甘信辉 李伟微 李嘉尧 郭占林 赵云龙 王 群\*

(华东师范大学生命科学学院 上海 200062)

**摘要:**为了确定饲料中胆固醇含量对雄性红螯光壳螯虾 (*Cherax quadricarinatus*) 生长和生殖的影响,本研究通过对初始体长为 10 cm 左右的雄虾投喂胆固醇添加量分别为对照组(0%)、实验 1 组(0.25%)、实验 2 组(0.50%)、实验 3 组(0.75%)、实验 4 组(1.00%)的人工配合饲料 10 周后,测定各组实验虾的肝胰腺消化酶、精巢碱性磷酸酶(AKP)、乳酸脱氢酶(LDH)和 ATP 酶活力。结果显示,生长指标和胰蛋白酶活力以实验 2 组最高;脂肪酶活力实验 2、3、4 组之间无显著差异,但显著高于实验 1 组和对照组;精巢 AKP 活力和 LDH 活力均以实验 3 组最高;精巢 ATP 酶活力实验 2 组和实验 3 组之间无显著差异,均显著高于实验 1、4 组和对照组。结果表明,对处于性腺快速发育阶段的雄性红螯光壳螯虾饲料中胆固醇的最适添加量在 0.50%~0.75% 之间。

**关键词:**红螯光壳螯虾;胆固醇;生长;生殖;酶活力

中图分类号:Q955 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2011)01-86-07

## Effects of Cholesterol on Growth and Reproduction in Male Redclaw Crayfish, *Cherax quadricarinatus*

GAN Xin-Hui LI Wei-Wei LI Jia-Yao GUO Zhan-Lin ZHAO Yun-Long WANG Qun\*

(Life Science College, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

**Abstract:** The male Redclaw Crayfish (*Cherax quadricarinatus*) with initial body length of 10.5 cm were fed with artificial diets containing different levels of cholesterol (0, 0.25%, 0.50%, 0.75%, 1.00%) for 10 weeks. Hepatopancreas digestive enzymes and testis AKP, LDH, ATPase were measured. The results showed that group 2 had the best growth index and the highest trypsin activity. There was no significant difference in lipase activity among groups 2, 3, and 4, but lipase activities in these three groups were higher than those in group 1 and control. Testis AKP activity and LDH activity were the highest in group 3. There was no significant difference in testis ATPase activity between group 2 and 3, but ATP activities in these two groups were higher than those in groups 1, 4 and control. The results suggest that the optimum dietary cholesterol in the feed was between 0.50% to 0.75% during rapid gonadal development phase in *C. quadricarinatus*.

**Key words:** *Cherax quadricarinatus*; Cholesterol; Growth; Reproduction; Enzyme activity

**基金项目** 上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字 2006 第 6-1 号),上海市科委重大计划项目(No. 08DZ1906401);

\* 通讯作者, E-mail: qwang@bio.ecnu.edu.cn;

**第一作者介绍** 甘信辉,男,硕士研究生;研究方向:水生动物生殖生理学;E-mail: xinhui@163.com。

收稿日期:2010-07-28,修回日期:2010-11-23

红螯光壳螯虾 (*Cherax quadricarinatus*) 原产于澳大利亚,隶属于甲壳纲十足目长尾亚目拟河虾科的光壳虾属,因雄性成虾大螯外侧有一膜质红斑而命名<sup>[1]</sup>。它是目前世界上较名贵的淡水经济虾类之一。1992 年引入我国,但至今尚未形成规模化养殖,其关键原因是亲虾产卵量、幼虾孵化率和成活率较低所致的苗种供应不足<sup>[2]</sup>,而这些原因都直接或间接与亲体的营养状态相关,因此亲体的生殖营养强化至关重要。然而,目前有关该虾的此类研究主要集中在雌体,忽略了雄体生殖期间营养强化研究,尤其是营养对精巢发育和精子质量的影响。胆固醇是虾蟹类等水产动物的性激素、蜕皮激素、肾上腺皮质激素、胆汁酸和维生素 D 的前体物质<sup>[3]</sup>,但该物质在虾蟹类体内不能合成或合成量过少,因此必须从饲料中获取才能满足正常生长发育的需要<sup>[4]</sup>。国内外有关胆固醇在虾蟹类生理功能、营养需求和代谢等方面已做了大量工作,如 Petrielle 研究了胆固醇对阿根廷虾 (*Artemesia longinaris*) 生长和成活的影响<sup>[5]</sup>,Briggs 等和 Shen 等分别研究了罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 和斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 幼虾对胆固醇的适宜需求量<sup>[6-7]</sup>,Chen 等研究了胆固醇对长毛对虾<sup>[8]</sup> (*P. penicillatus*) 生长、存活和体脂组成的影响等<sup>[9]</sup>,但至今尚未见有关红螯光壳螯虾胆固醇营养研究以及对消化酶影响方面的报道。鉴于雌雄虾营养需求的差异<sup>[10]</sup>,本研究针对雄性红螯光壳螯虾,通过在基础饲料中添加不同含量的胆固醇,研究精巢快速发育阶段胆固醇对其生长及生殖的影响,探讨雄虾饲料胆固醇的适宜添加量,以期为该虾雄性生殖营养强化提供理论参考。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验饲料** 在基础饲料中添加不同水平的胆固醇(国药,上海),添加量分别为对照组(0%)、实验 1 组(0.25%)、实验 2 组(0.50%)、实验 3 组(0.75%)、实验 4 组(1.00%)。饲料原料经粉碎后过 40 目筛,通过绞肉机制成约 2.0

mm 颗粒料,风干后置 -20℃ 冰箱冷藏备用。各实验组饲料成分见表 1。

**1.2 饲养管理** 实验时间为 2009 年 8 ~ 10 月,共 10 周。实验用虾由上海市金山区漕径特种水产实验场提供,为体质健壮、规格整齐的性腺快速发育期雄性红螯光壳螯虾,初始体长为 (10.5 ± 1.0) cm,体重为 (19.72 ± 1.80) g。实验前在水族箱暂养 7 d,暂养期间只投喂对照组饲料,实验开始后各组分别投喂相应胆固醇含量的颗粒饲料。每个水族箱放虾 12 只,水族箱规格为长 × 宽 × 深 = 80 cm × 65 cm × 57 cm,箱内加入瓦片作为掩体,每组设 3 个平行;实验期间不间断增氧,自然光照,水温 (25 ± 2) °C, pH 7.1 ~ 8.0,水深 50 cm;早晚两次定时投喂,日投饵量为体重的 3%,次日上午吸去粪便及残饵,隔天换水 10 cm;期间记录投饵量,每两周称重一次,以此调整投饵量。

## 1.3 样品采集与测定方法

**1.3.1 样品采集** 取样前停食 1 d,各组随机取蜕皮间期虾 6 只,经冰浴麻醉后分别称重,并迅速解剖取出肝胰腺和性腺(精巢、输精管、射精管,见图 1),液氮速冻后置于 -80℃ 冰箱保存备用。相关指数用以下公式计算:

体重增长率 (%) =

$[(\text{末均重} - \text{初均重}) / \text{初均重}] \times 100\%$ ;

饲料效率 (%) =

$[(\text{末总重} - \text{初总重}) / \text{总投饵量}] \times 100\%$ ;

存活率 (%) =

$(\text{末存活个体数} / \text{初个体数}) \times 100\%$ ;

蜕壳率 (%) =

$[2 \times \text{蜕壳数} / (\text{初个体数} + \text{末个体数})]$

$\times 100\%$ ;

性腺指数 (%) =

$[(\text{精巢} + \text{输精管} + \text{射精管}) \text{总重} / \text{虾体重}]$

$\times 100\%$ 。

**1.3.2 消化酶活力测定** 准确称取 5 组肝胰腺样品各 0.5 g,按重量体积比 1:4 加入预冷的 0.75% 生理盐水,冰浴匀浆,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液 4℃ 保存,用于下述各消化酶活力的测定。其中,考马斯亮兰法测定各组

表 1 不同胆固醇含量饲料配方

Table 1 Composition and analysis of the different cholesterol dietaries (% ,dry weight)

成分 Ingredient	对照组 Control	1 组 Group 1	2 组 Group 2	3 组 Group 3	4 组 Group 4
原料组分 Composition					
鱼粉 Fish meal	30	30	30	30	30
豆粕 Soybean meal	30	30	30	30	30
面粉 Wheat flour	18	18	18	18	18
豆油 Soybean oil	5	5	5	5	5
明胶 Gelatin	4	4	4	4	4
多维 Vitamins premix <sup>a</sup>	3	3	3	3	3
多矿 Minerals premix <sup>b</sup>	2	2	2	2	2
纤维素 Cellulose	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5
氯化胆碱 Choline	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
维生素 C Vitamin C	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
维生素 E Vitamin E	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
甜菜碱 Betaine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
胆固醇 Cholesterol	0	0.25	0.50	0.75	1.00
营养成分 Nutrient ingredients					
粗蛋白 Crudeprotein	37.28	36.98	37.43	36.91	37.09
粗脂肪 Crude lipid	8.23	8.25	8.26	8.29	8.32
粗灰分 Crude ash	16.92	17.03	17.28	17.18	17.20
干物质 Dry matter	89.83	89.92	90.43	89.89	90.28
能量 Energy( kJ/g )	18.43	18.47	18.50	18.52	18.57

a. 多维(每 100 g): V<sub>B1</sub>0.15 g, V<sub>B2</sub>0.375 g, V<sub>B3</sub>1.0 g, V<sub>B5</sub>1.0 g, V<sub>B6</sub>0.4 g, V<sub>B7</sub>0.04 g, V<sub>B11</sub>0.1 g, V<sub>B12</sub>0.01 g, V<sub>A</sub>0.004 g, V<sub>C</sub>0.06 g, V<sub>D3</sub>0.087 5 g, V<sub>E</sub>1.125 g, V<sub>K</sub>0.05 g, 肌醇 10.0 g; b. 多矿(每 100 g): NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>10.0 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>21.5 g, Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 26.5 g, CaCO<sub>3</sub>10.5 g, KCl 2.8 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 10.0 g, AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 1.2 g, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.511 g, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0.143 g, KI 0.058 g, CuCl<sub>2</sub>0.051 g, CoC<sub>12</sub>·6H<sub>2</sub>O 1.2 g, 乳酸钙 16.50 g, 柠檬酸铁 0.061 g。

a. Vitamins premix (per 100 g): V<sub>B1</sub>0.15 g, V<sub>B2</sub>0.375 g, V<sub>B3</sub>1.0 g, V<sub>B5</sub>1.0 g, V<sub>B6</sub>0.4 g, V<sub>B7</sub>0.04 g, V<sub>B11</sub>0.1 g, V<sub>B12</sub>0.01 g, V<sub>A</sub>0.004 g, V<sub>C</sub>0.06 g, V<sub>D3</sub>0.087 5 g, V<sub>E</sub>1.125 g, V<sub>K</sub>0.05 g, C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>10.0 g; b. Minerals premix (per 100 g): NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>10.0 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>21.5 g, Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 26.5 g, CaCO<sub>3</sub>10.5 g, KCl 2.8 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 10.0 g, AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 1.2 g, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.511 g, MnSO<sub>4</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.143 g, KI 0.058 g, CuCl<sub>2</sub>0.051 g, CoC<sub>12</sub>·6H<sub>2</sub>O 1.2 g, CaC<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>·5H<sub>2</sub>O 16.50 g, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>FeO<sub>7</sub>0.061 g。

织蛋白浓度(试剂盒购自南京建成生物工程研究所)。

脂肪酶、胰蛋白酶和淀粉酶活力均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定。其中,脂肪酶以 37℃ 条件下,每克组织蛋白在反应体系中与底物反应 1 min 每消耗 1 μg 底物为 1 个活力单位(U/g prot);胰蛋白酶以 37℃ 条件下,每 mg 组织蛋白中含有的胰蛋白酶 1 min 使吸光度变化 0.003 为 1 个酶活力单位(U/mg prot);淀粉酶以 37℃ 条件下,每 mg 组织蛋白在反应体系中与底物作用 30 min 水解 10 mg 淀粉为 1 个活力单位(U/mg prot);纤维素酶测定参照潘鲁青等<sup>[11]</sup>的方法,酶活力定义为:在 40℃ 下,每分钟催化纤维素生成 1 μg 葡萄糖作为 1 个酶活力单位(U, μg/min)。测定

仪器为 Spectrumlab 22 pc 可见分光光度计(Lengquang Tech.)。

**1.3.3 碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶、ATP 酶活力测定** 准确称取 5 组精巢样品各 0.25 g,按重量体积比 1:9 加入预冷的 0.75% 生理盐水,冰浴匀浆,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液 4℃ 保存,用于下述各酶活力的测定。其中,考马斯亮兰法测定各组织蛋白浓度(试剂盒购自南京建成生物工程研究所)。

碱性磷酸酶和乳酸脱氢酶活力测定均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒,具体测定方法见各产品说明书。碱性磷酸酶活力定义:1 g 组织蛋白在 37℃ 与基质作用 15 min 产生 1 mg 酚为 1 个酶活力单位(U/g prot)。乳酸脱氢酶活力定义:1 g 组织蛋白在 37℃ 与基质

作用 15 min, 在反应体系中产生 1  $\mu\text{mol/L}$  丙酮酸为 1 个酶活力单位(U/mg)。ATP 酶活力测定采用南京建成生物工程研究所生产的超微量 ATP 酶试剂盒( $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATPase}$  测定试剂盒)测定, 酶活力定义: 每小时 1 mg 组织蛋白的组织中 ATP 酶分解 ATP 产生 1  $\mu\text{mol/L}$  无机磷的量

为 1 个 ATP 酶活力单位(U/mg prot)。

**1.4 数据的统计学分析** 用 SPSS 16.0 进行数据统计分析, 显著性检验采用 One-Way ANOVA 法, 并采用 Duncan 法进行多重比较。数据用平均值  $\pm$  标准差 (Mean  $\pm$  SD) 表示, 显著性水平设置为  $P < 0.05$ 。

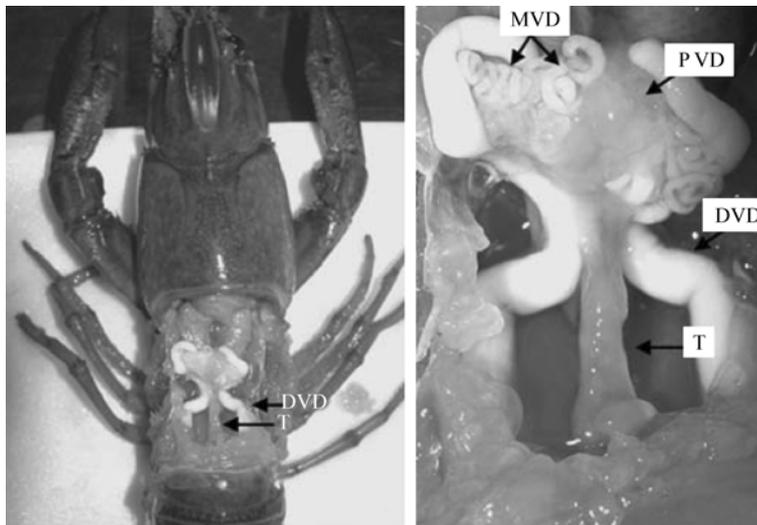


图 1 雄性红螯光壳螯虾性腺解剖结构

Fig.1 Anatomical structure of sexual glands in male *Cherax quadricarinatus*

T: 精巢; PVD: 前输精管; MVD: 中输精管; DVD: 后输精管。

T: Testis; PVD: Previous vas deferens; MVD: Middle vas deferens; DVD: Dernier vas deferens.

## 2 结果

**2.1 饲料中添加不同含量的胆固醇对雄性红螯光壳螯虾生长指标的影响** 各实验组虾初末均重、体重增长率、饲料效率、存活率及蜕壳率结果见表 2。实验结束时对照组及各实验组虾

体重均有了大幅提高 ( $\geq 78.8\%$ )。各实验组体重增长率及饲料效率均显著高于未添加胆固醇的对照组, 其中以投喂 0.50% 胆固醇的饲料组(2 组)达到最高。各实验组存活率无显著差异, 而所有实验组均显著高于对照组(62.77%)。蜕壳率随着饲料中胆固醇添加量的增加而升

表 2 饲料中添加不同含量胆固醇对雄性红螯光壳螯虾生长指标的影响 (Mean  $\pm$  SD)

Table 2 The effect of different cholesterol dietaries on growth parameters of male *Cherax quadricarinatus*

组别 Groups	初均重(g) Initial weight	末均重(g) Final weight	体增重率(%) Weight growth rate	饲料效率(%) Feed rate	存活率(%) Survival rate	蜕壳率(%) Exuviate rate
对照 Control	19.9 $\pm$ 1.6	35.6 $\pm$ 2.2	78.80 $\pm$ 2.45 <sup>a</sup>	21.73 $\pm$ 1.35 <sup>a</sup>	62.77 $\pm$ 6.31 <sup>a</sup>	57.54 $\pm$ 4.25 <sup>a</sup>
1	20.1 $\pm$ 1.7	40.5 $\pm$ 2.8	101.73 $\pm$ 3.16 <sup>b</sup>	29.40 $\pm$ 0.96 <sup>b</sup>	87.77 $\pm$ 3.85 <sup>b</sup>	106.20 $\pm$ 11.33 <sup>b</sup>
2	19.7 $\pm$ 1.7	45.8 $\pm$ 2.9	132.30 $\pm$ 3.14 <sup>c</sup>	40.03 $\pm$ 4.19 <sup>d</sup>	93.33 $\pm$ 5.77 <sup>b</sup>	124.42 $\pm$ 7.92 <sup>c</sup>
3	19.5 $\pm$ 1.8	43.3 $\pm$ 3.6	122.40 $\pm$ 2.88 <sup>d</sup>	34.53 $\pm$ 2.95 <sup>c</sup>	87.22 $\pm$ 6.31 <sup>b</sup>	129.38 $\pm$ 1.82 <sup>c</sup>
4	19.4 $\pm$ 1.4	40.5 $\pm$ 3.0	109.13 $\pm$ 2.69 <sup>c</sup>	30.53 $\pm$ 0.76 <sup>bc</sup>	83.44 $\pm$ 5.68 <sup>b</sup>	135.50 $\pm$ 7.83 <sup>c</sup>

同一列中上标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Data in the same line super-marked with different letters are significantly different ( $P < 0.05$ ).

高,且各实验组蜕壳率显著高于对照组。

**2.2 饲料中添加不同含量的胆固醇对雄性红螯光壳螯虾肝胰腺消化酶的影响** 对照组及各实验组肝胰腺消化酶活力测定结果见表 3。各实验组脂肪酶和胰蛋白酶活力均显著高于对照组,其中脂肪酶活力随着饲料中胆固醇添加量

的增加呈现逐渐升高的趋势,但实验组 2、3 和 4 组之间差异不显著,而胰蛋白酶活力则随着饲料中胆固醇添加量的增加呈现先上升后下降的趋势,以 2 组活力最高(95.53 U/mg prot)。淀粉酶和纤维素酶活力各实验组之间无显著差异。

表 3 饲料中添加不同含量胆固醇对雄性红螯光壳螯虾肝胰腺消化酶活力的影响

**Table 3 The effect of different cholesterol dietaries on digestive enzymes activities in hepatopancreas of male *Cherax quadricarinatus* (Mean ± SD)**

组别 Groups	脂肪酶 Lipase (U/g prot)	胰蛋白酶 Trypsin (U/mg prot)	淀粉酶 Amylase (U/mg prot)	纤维素酶 Cellulase (U)
对照 Control	71.73 ± 6.15 <sup>a</sup>	56.55 ± 2.69 <sup>a</sup>	0.49 ± 0.05	0.34 ± 0.02
1	103.58 ± 5.29 <sup>b</sup>	81.44 ± 3.19 <sup>b</sup>	0.46 ± 0.05	0.38 ± 0.07
2	132.88 ± 6.23 <sup>c</sup>	95.53 ± 4.10 <sup>d</sup>	0.47 ± 0.03	0.34 ± 0.05
3	133.21 ± 9.55 <sup>c</sup>	89.44 ± 2.92 <sup>cd</sup>	0.52 ± 0.07	0.34 ± 0.05
4	138.25 ± 5.82 <sup>c</sup>	84.13 ± 5.46 <sup>bc</sup>	0.56 ± 0.06	0.31 ± 0.04

同一列中上标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Data in the same line super-marked with different letters are significantly different ( $P < 0.05$ ).

**2.3 饲料中添加不同含量的胆固醇对雄性红螯光壳螯虾生殖的影响** 基础饲料中添加不同含量的胆固醇,雄性红螯光壳螯虾性腺指数(GSI)及精巢碱性磷酸酶(AKP)、乳酸脱氢酶(LDH)、ATP 酶(ATPase)活力变化见表 4。各实验组 GSI、AKP、LDH 以及 ATPase 均显著高

于对照组。GSI 随饲料中胆固醇添加量的增加而升高,但添加量超过 0.5% 后,GSI 变化不显著;而 AKP、LDH 以及 ATPase 活力均呈现先上升后下降的趋势,最高值均出现在 2 组(ATPase)或 3 组(AKP、LDH),其中 4 组 ATPase 水平接近对照组(4.10 U/mg prot)。

表 4 饲料中添加不同含量胆固醇对雄性红螯光壳螯虾生殖相关指标的影响

**Table 4 The effect of different cholesterol dietaries on reproductive parameters in testis of male *Cherax quadricarinatus* (Mean ± SD)**

组别 Groups	性腺指数 GSI (%)	碱性磷酸酶 AKP (U/g prot)	乳酸脱氢酶 LDH (U/mg)	ATP 酶 ATPase (U/mg prot)
对照 Control	0.71 ± 0.04 <sup>a</sup>	6.69 ± 0.65 <sup>a</sup>	595.01 ± 37.59 <sup>a</sup>	4.10 ± 0.33 <sup>a</sup>
1	0.88 ± 0.03 <sup>b</sup>	11.33 ± 0.92 <sup>b</sup>	825.35 ± 58.55 <sup>b</sup>	6.13 ± 0.23 <sup>b</sup>
2	1.02 ± 0.04 <sup>c</sup>	17.58 ± 0.97 <sup>c</sup>	1 087.10 ± 47.11 <sup>c</sup>	8.48 ± 0.71 <sup>c</sup>
3	1.03 ± 0.04 <sup>c</sup>	20.73 ± 1.45 <sup>d</sup>	1 173.40 ± 91.54 <sup>c</sup>	8.16 ± 0.55 <sup>c</sup>
4	1.04 ± 0.02 <sup>c</sup>	16.87 ± 0.53 <sup>c</sup>	853.93 ± 45.29 <sup>b</sup>	4.40 ± 0.16 <sup>a</sup>

同一列中上标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Data in the same line super-marked with different letters are significantly different ( $P < 0.05$ ).

GSI: Index of sexual glands; AKP: Alkaline phosphatase; LDH: Lactate dehydrogenase; ATPase: Adenosine triphosphate enzyme.

### 3 讨论

水产动物对不同营养物质的需求一直以来是水产养殖过程中关注的焦点,这对提高养殖

产量和品质、防止养殖水体污染等至关重要。脂类是虾蟹类生长发育所需能量的主要来源,也是生物膜结构的重要组成部分,对虾蟹的成活和生长有重要影响<sup>[12]</sup>,而胆固醇又是其中备

受关注的营养物质。研究表明,饲料中添加胆固醇能有效地促进对虾幼虾以及龙虾幼体的生长、变态和存活<sup>[13-14]</sup>,还能提高虾肌肉中总脂肪含量<sup>[15]</sup>;而日粮中缺乏胆固醇会严重影响虾蟹类的体重增长、存活率和蜕壳率<sup>[16-17]</sup>。本实验结果显示,饲料中添加胆固醇的各实验组虾体重增长率、饲料效率、存活率以及蜕壳率均显著高于对照组,证明胆固醇能促进性腺快速发育阶段雄性红螯光壳螯虾的生长及存活,再次证明胆固醇对虾类生长发育的促进作用。从各实验组的存活率来看,虽然 0.5% 的添加量组最高,但各实验组之间并无显著差异,说明 0.25% 的添加量已基本满足处于性腺快速发育阶段雄虾的需要;而从体重增长率、饲料效率、脂肪酶活性及胰蛋白酶活性等来看,0.5% 的添加量更能满足该虾的生长发育所需,这一结果与中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 及三疣梭子蟹 (*Portunus triuberbuculatus*) 的研究结果一致<sup>[18-19]</sup>。此外,饲料中添加胆固醇能明显提高该虾的蜕壳频率,这可能与胆固醇作为蜕皮激素合成的前体物质有关<sup>[20-21]</sup>,而相关的研究又认为虾蟹体重增长是由蜕壳时体重的增长及蜕壳频率所决定的<sup>[22]</sup>,但本研究结果中最高蜕壳率实验组(实验 4 组)与最大体增重率和饲料效率实验组(实验 2 组)并不一致,这说明虾体重的增长并不单纯由蜕壳频率决定,应该还与营养物质在虾体内的消化吸收等因素相关。

虾蟹类胆固醇放射性示踪的研究发现,胆固醇可转换为炔黄体酮、睾酮素及 11-酮睾酮素等类固醇激素,主要集中在性腺和真皮组织,表明胆固醇与虾蟹类的生殖、蜕皮有关<sup>[23]</sup>。碱性磷酸酶(AKP)是与生殖器官发育、精子存活率、精子密度等密切相关的一种酶,在生殖器官中有大量分布<sup>[24]</sup>;乳酸脱氢酶(LDH)则是机体内糖酵解的重要酶类,是细胞在厌氧条件下获取能量的主要方式<sup>[25]</sup>,与精子的代谢相关<sup>[26]</sup>。本实验同样发现,随饲料胆固醇添加量的增加,该虾性腺指数、AKP 活性和 LDH 活性均显著提高,表明胆固醇的添加有效促进了该虾性腺的发育,而这些指标的最高值几乎均出现在实验

3 组(0.75%),表明胆固醇 0.75% 的添加量更适合该虾性腺的发育。ATP 酶(ATPase)的主要作用是通过水解 ATP 释放能量,同时驱动细胞膜两侧离子对向运输,维持细胞膜两侧的膜电位和渗透压,为营养物质的吸收提供动力<sup>[27]</sup>,但高胆固醇环境对 ATPase 活性有抑制作用<sup>[28]</sup>,本实验中实验 2 组和 3 组 ATPase 活性显著高于其他组,表明 0.50% ~ 0.75% 的添加量有利于该虾营养物质的吸收和转化,同时过高的添加量(1.00%)对 ATP 酶有显著抑制作用,还极易引起蜕壳频率过快而导致性早熟<sup>[29]</sup>。目前国内外已有一些关于外界因素对甲壳动物精子质量影响方面的报道<sup>[30-31]</sup>,而本实验各组 AKP、LDH 和 ATPase 的活性变化虽表明饲料中添加胆固醇后促进了该虾精巢的发育,但对精子的质量以及活力是否也有增强作用还有待于进一步研究。

综合生长和生殖两个方面的指标来看,性腺快速发育阶段的雄性红螯光壳螯虾饲料中胆固醇的最适添加量应该在 0.50% ~ 0.75% 之间,在生长期以 0.5% 左右为宜,性腺快速发育期则可能增加至 0.75%,以保证性腺的正常发育。

## 参 考 文 献

- [1] 赵云龙,孟凡丽,陈立侨,等. 红螯螯虾繁殖习性的研究. 动物学杂志,2000,35(5): 5-9.
- [2] 罗文,王群,赵云龙,等. 维生素 E 对红螯螯虾繁殖性能的影响. 海洋与湖沼,2005,36(4): 335-341.
- [3] 温小波,陈立侨. 磷脂和胆固醇在虾蟹类营养中的研究进展. 淡水渔业,2000,30(5): 25-27.
- [4] 李爱杰. 水产动物营养与饲料学. 北京:中国农业出版社,1996: 43.
- [5] Petrielle A M. 饵料脂肪酸和胆固醇对阿根廷虾生长和成活的影响. 水产科学,1985,4(3): 47-50.
- [6] Briggs M R, Juancey K, Brown J H. The cholesterol and lecithin requirements of juvenile prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) fed semipurified diets. Aquaculture, 1988, 70: 121-129.
- [7] Shen S S, Liu P C, Chen S N, et al. Cholesterol requirement of juvenile tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Aquaculture, 1994, 125: 131-137.
- [8] Chen H Y, Jenn J S. Combined effects of dietary

- phosphatidylcholine and cholesterol on the growth, survival and body lipid composition of marine shrimp, *Penaeus penicillatus*. *Aquaculture*, 1991, 96: 167 - 178.
- [ 9 ] 汪留全, 李海洋, 胡王, 等. 饲料中胆固醇水平对幼蟹生长和饲料利用率影响的研究. *淡水渔业*, 2004, 34(1): 13 - 15.
- [ 10 ] Clive M J. Production of Juvenile redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (Von Martens) (Decapoda, Parastacidae) I. Development of hatchery and nursery procedures. *Aquaculture*, 1995, 138: 221 - 238.
- [ 11 ] 潘鲁青, 王克行. 中华绒螯蟹幼体消化酶活力与氨基酸组成的研究. *中国水产科学*, 1997, 4(2): 13 - 20.
- [ 12 ] 江洪波, 陈立桥, 周忠良, 等. 脂质营养对中华绒螯蟹幼体肝胰腺超微结构的影响. *动物学研究*, 2001, 22(1): 64 - 68.
- [ 13 ] Kanazawa A. Nutrition of penaeid prawn and shrimp. Iloilo, Philippines: Aquaculture Department of Southeast Asian Fisheries Development Center, 1985: 123 - 130.
- [ 14 ] Castell J D, Mason E G, Covey J F. Cholesterol requirements of juvenile American lobsters (*Homarus americanus*). *J Fish Res Board Can*, 1975, (32): 1431 - 1435.
- [ 15 ] 王秀英, 邵庆均, 黄磊. 虾类饵料中胆固醇的需要量. *中国饲料*, 2004, 11: 31 - 32.
- [ 16 ] Sheen S S. Dietary cholesterol requirement of juvenile mud crab *Scylla serrata*. *Aquaculture*, 2000, 189(3/4): 277 - 285.
- [ 17 ] Chen H Y. Requirements of marine shrimp, *Penaeus monodon*, juveniles for phosphatidylcholine and cholesterol. *Aquaculture*, 1993, 109: 161 - 176.
- [ 18 ] 周洪琪, 王义强. 中国对虾对胆固醇磷脂的营养需求量. *水产学报*, 1991, 15(2): 148 - 154.
- [ 19 ] 高红建, 丁雪燕, 钱国英, 等. 三疣梭子蟹对胆固醇适宜需求量的研究. *饲料研究*, 2005, 9: 20 - 22.
- [ 20 ] Eugene S, Stanley B K. Uptake and turnover of cholesterol-<sup>14</sup>C in Y-organs of the crab *Hemigrapsus* as a function of the molt cycle. *General and Comparative Endocrinology*, 1973, 20(3): 534 - 549.
- [ 21 ] Robert B G, Richard A B. Isolation and purification of the molting hormones from the American lobster (*Homarus americanus*). *Comparative Biochemistry and Physiology: Part B: Comparative Biochemistry*, 1976, 53(2): 155 - 161.
- [ 22 ] 黄磊, 詹勇, 许梓荣, 等. 虾蟹类胆固醇需要量的最新研究. *饲料研究*, 2004, (11): 41 - 43.
- [ 23 ] Teshima S, Kanazawa A. Biosynthesis of sterols in the lobster, *Pamulus japonica*, the Prawn, *Penaeus japonicus* and the Crab, *Portunus trituberculatus*. *Comp Biochem Physiol*, 1971, 38: 597 - 602.
- [ 24 ] 王世忠. 曲精小管碱性磷酸酶分布的探讨. *天津第二医学院学报*, 1993, 10(3): 4.
- [ 25 ] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长发. *生物化学*. 北京: 高等教育出版社, 2002: 66 - 72.
- [ 26 ] 丁银娣, 王群, 李恺, 等. 红螯螯虾雄性生殖系统的生化组成及精子代谢. *中国水产科学*, 2005, 12(5): 562 - 568.
- [ 27 ] 李海英, 赵娟, 李海生. Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup>-ATP 酶和 Ca<sup>2+</sup> Mg<sup>2+</sup>-ATP 酶活性影响因素的研究进展. *现代中西医结合杂志*, 2008, 17(9): 1449 - 1450.
- [ 28 ] 杨绍恣, 陈毓华, 张晓先. 高胆固醇血症病人的红细胞膜 ATP 酶活性变化. *生物化学与生物物理进展*, 1992, (1): 47 - 49.
- [ 29 ] 朱雅珠, 王建军, 张根玉, 等. 饲料中胆固醇的添加量及蛋白含量对蟹种生长及性早熟的影响. *渔业现代化*, 1999, (3): 3 - 6.
- [ 30 ] 袁路, 蔡生力. 温度对凡纳滨对虾精英再生和精子质量的影响. *水产学报*, 2006, 30(1): 63 - 68.
- [ 31 ] Perez-Velazquez M, Bray W A. et al. Effect of temperature on sperm quality of captive *Litopenaeus vannamei* broodstock. *Aquaculture*, 2001, 198: 209 - 218.